

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini adalah bidang ilmu Biokimia dan Farmakologi.

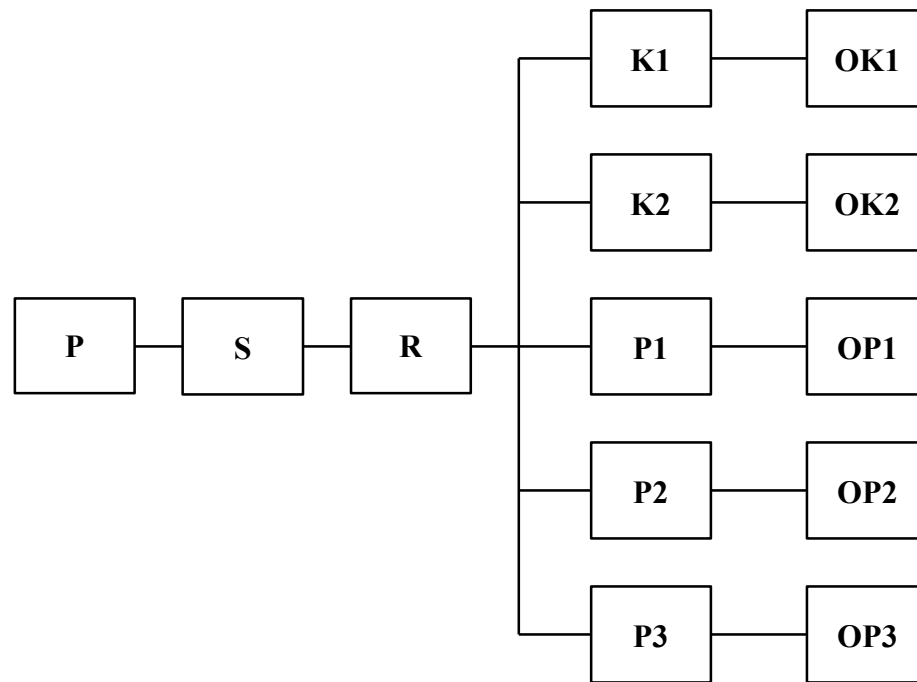
#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu – Layanan Penelitian Pra Klinik Pengembangan Hewan Percobaan (LPPT-LP3HP) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Waktu yang diperlukan untuk penelitian adalah 8 minggu dan dilakukan pada bulan Februari – April 2016.

#### **3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan pendekatan *the post test-only control group design*. Sampel penelitian ini menggunakan binatang coba tikus wistar. Penelitian ini menggunakan lima kelompok, satu kelompok kontrol negatif, satu kelompok kontrol positif dan tiga kelompok perlakuan. Tiap kelompok terdiri dari 7 ekor tikus. Kelompok kontrol negatif mendapat pakan standar, kelompok kontrol positif mendapat pakan standar serta diinduksi parasetamol dan kelompok perlakuan mendapat pakan standar, ekstrak buah kiwi dosis berbeda untuk setiap kelompok perlakuan serta diinduksi parasetamol.

Skema rancangan penelitian:



**Gambar 3.** Skema rancangan penelitian

Keterangan rancangan penelitian:

P : Persiapan sampel

S : Sampel setelah diadaptasi

R : Randomisasi

K1 : Perlakuan kelompok kontrol : makanan standar

K2 : Perlakuan kelompok 1 : makanan standar serta diinduksi parasetamol

P1 : Perlakuan kelompok 2 : makanan standar, ekstrak buah kiwi dosis 100 mg/kgBB, diinduksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama 3 hari

P2 : Perlakuan kelompok 3 : makanan standar, ekstrak buah kiwi dosis 200 mg/kgBB, diinduksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama 3 hari

P3 : Perlakuan kelompok 4: makanan standar, ekstrak buah kiwi dosis 400 mg/kgBB, diinduksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama 3 hari

OK1, OK2, OP1, OP2, OP3 : Pengukuran kadar ureum dan kreatinin serum setelah diberi perlakuan

### **3.4 Sampel Penelitian**

Sampel penelitian yang digunakan merupakan tikus jantan galur Wistar yang didapatkan dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu – Layanan Penelitian Pra Klinik Pengembangan Hewan Percobaan (LPPT-LP3HP) Universitas Gadjah Mada, yang kemudian dipilih secara randomisasi dengan menggunakan kriteria-kriteria sebagai berikut:

#### **3.4.1 Kriteria Inklusi**

- a. Tikus normal
- b. Berat badan 100-200 gram
- c. Berusia minimal 8 minggu sebelum diadaptasi
- d. Tikus dalam keadaan sehat dan aktif bergerak
- e. Tidak terdapat kelainan anatomik

#### **3.4.2 Kriteria Eksklusi**

- a. Tikus tampak sakit (gerakan tidak aktif)
- b. Tikus mengalami diare
- c. Tikus tidak mau makan dan minum
- d. Tikus mati dalam masa penelitian

#### **3.4.3 Cara Sampling**

Sampel penelitian diperoleh secara *simple random sampling*.

### **3.4.4 Besar Sampel**

Penentuan besar sampel dilakukan menurut ketentuan WHO, yakni minimal 5 ekor tikus tiap kelompok. Dalam penelitian ini tikus yang telah digunakan sebanyak 7 tikus per kelompok. Pada penelitian ini terdapat 5 kelompok, oleh karena itu diperlukan 35 ekor tikus.<sup>25</sup>

## **3.5 Variabel Penelitian**

### **3.5.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas yang terdapat dalam penelitian ini adalah ekstrak buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB.

### **3.5.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar ureum dan kreatinin serum tikus wistar yang diinduksi parasetamol setelah pemberian ekstrak buah kiwi (*Actinidia deliciosa*).

### 3.6 Definisi Operasional

**Tabel 3.** Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Unit	Skala
1	Ekstrak buah kiwi ( <i>Actinidia deliciosa</i> )	Ekstraksi buah kiwi menggunakan metode ekstraksi maserasi, dan menggunakan pelarut etanol 96%	mg/kgBB	nominal
2	Kadar ureum serum	Kadar ureum diukur dengan metode “Urease-GLDH”; Tes UV Enzimatis dan menggunakan alat spektrofotometer	mg/dl	rasio
3	Kadar kreatinin serum	Kadar kreatinin diukur dengan metode tes fotometrik kinetik dan menggunakan alat Fotometer Merck Microlab 300	mg/dl	rasio

### 3.7 Cara Pengumpulan Data

#### 3.7.1 Bahan

- Tikus jantan wistar sebanyak 35 ekor
- Pakan standar
- Ekstrak buah kiwi (*Actinidia deliciosa*)

- d. Aquades
- e. Antikoagolan Heparin
- f. Reagen kit ureum (Dyasis)
- g. Reagen pencuci cuvet khusus
- h. Reagen kit kreatinin
- i. Larutan NaCl 9g/l
- j. Reagen pencuci cuvet (*Extran*)

### **3.7.2 Alat**

- a. Kandang hewan
- b. Timbangan hewan
- c. Sonde lambung dan *syringe*
- d. Tabung sentrifuge
- e. Tabung Reaksi
- f. Spektrofotometer
- g. Cuvet
- h. Alat sentrifuge
- i. Mikropipet (*yellow tip* dan *blue tip*)
- j. Mortir dan stamper
- k. Vortex-mixer
- l. Fotometer Merck Microlab 300

### **3.7.3 Jenis Data**

Jenis data yang dikumpulkan pada penelitian ini seluruhnya adalah data primer yaitu data yang diambil langsung oleh peneliti dari sampel penelitian.

### **3.7.4 Cara Kerja**

#### **3.7.4.1 Aklimatisasi**

Adaptasi kepada tikus dilakukan dengan perawatan di kandang individu dengan supaya dapat bergerak dengan bebas dan tidak stres, juga diberikan pakan standar selama 1 minggu.

#### **3.7.4.2 Pengelompokan**

Setelah adaptasi selama 1 minggu, tikus dibagi secara random dalam 5 kelompok sehingga masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor tikus. Kelompok yang ada yakni kontrol negatif (K1), kontrol positif (K2), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3).

#### **3.7.4.3 Pemberian Perlakuan**

Seluruh tikus dibagi menjadi 5 kelompok masing-masing kelompok tikus berjumlah 7 ekor menggunakan *simple random sampling* dengan perlakuan yang berbeda. Sebelum melakukan intervensi, beberapa kriteria yang harus diperhatikan untuk menghindari adanya bias seperti tikus tidak sakit, tikus tidak mengalami diare, dan tikus tidak mengalami kelainan anatomi.

Setelah didapatkan 5 kelompok besar, intervensi dilakukan selama 8 minggu dan dibagi menjadi :

- a. Kelompok K1 (kontrol negatif) yang mendapat pakan standar dan aquades secara *ad libitum*.
- b. Kelompok K2 (kontrol positif) yang mendapat pakan standar selama masa perlakuan serta diinduksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama 3 hari pada 3 hari terakhir perlakuan
- c. Kelompok P1 yang mendapat pakan standar selama masa perlakuan, diberi ekstrak buah kiwi dengan dosis 100 mg/kgBB selama 8 minggu serta diinduksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama 3 hari pada 3 hari terakhir perlakuan
- d. Kelompok P2 yang mendapat pakan standar selama masa perlakuan, diberi ekstrak buah kiwi dengan dosis 200 mg/kgBB selama 8 minggu serta diinduksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama 3 hari pada 3 hari terakhir perlakuan
- e. Kelompok P3 yang mendapat pakan standar selama masa perlakuan, diberi ekstrak buah kiwi dengan dosis 400 mg/kgBB selama 8 minggu serta diinduksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama 3 hari pada 3 hari terakhir perlakuan

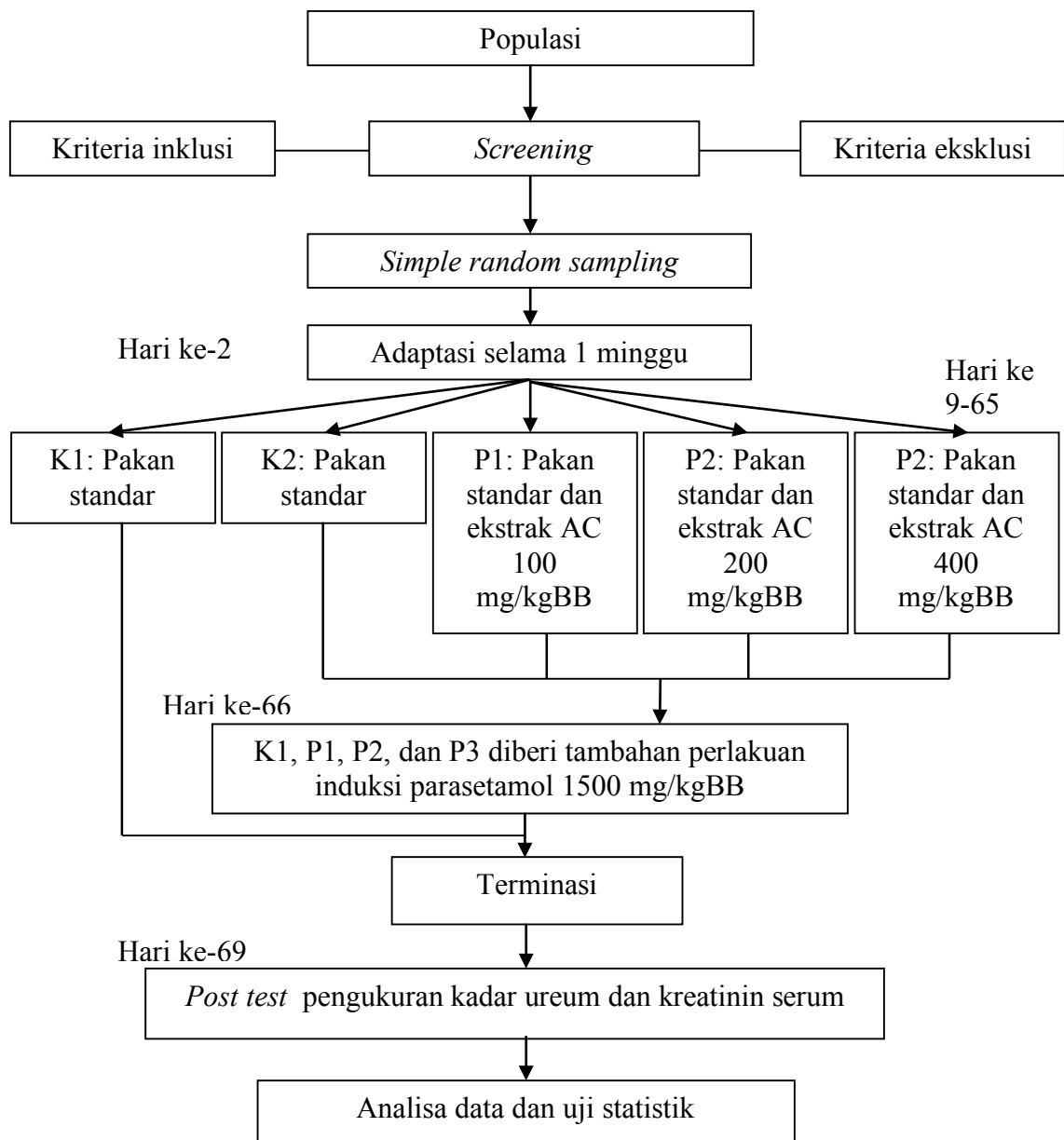
Perlakuan ini dilakukan selama 8 minggu pada semua kelompok dengan adaptasi selama 1 minggu.



#### **3.7.4.4 Pengambilan Data**

Seluruh tikus pada masing-masing kelompok diambil darah vena pada pleksus retroorbitalis untuk pemeriksaan kadar ureum dan kreatinin serum untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah kiwi terhadap kadar ureum dan kreatinin serum. Serum ini digunakan untuk pemeriksaan kadar ureum dan kreatinin serum yang dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada.

### 3.8 Alur Penelitian



**Gambar 4.** Alur penelitian

### 3.9 Analisis Data

Data yang terkumpul terlebih dahulu dimasukkan ke dalam file *Microsoft Excel*. Pengelolaan data lebih lanjut menggunakan program *IBM SPSS Statistics*.

Data primer berupa kadar ureum dan kreatinin serum yang diperoleh setelah dilakukan intervensi diolah menggunakan uji normalitas data *Shapiro-Wilk*. Apabila uji normalitas menunjukkan persebaran data yang normal maka dilakukan pengolahan data dengan uji *one way Anova* dan *post hoc*. Apabila data tidak berdistribusi normal maka data dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney-U*.

Uji hipotesis dianggap signifikan secara statistik apabila  $p < 0.05$  dengan interval kepercayaan sebesar 95%.

### 3.10 Etika Penelitian

*Ethical clearance* didapatkan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang atau RSUP dr. Kariadi Semarang.

Penelitian ini menggunakan 35 ekor tikus wistar yang diberi pakan standar selama 8 minggu dan diberi perlakuan sesuai dengan uraian. Setelah penelitian selesai, tikus dimatikan dan dimusnahkan oleh ahli dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu – Layanan Penelitian Pra Klinik Pengembangan Hewan Percobaan (LPPT – LP3HP) Universitas Gadjah Mada.